

T84-celler | 300354

Generell informasjon

Description Denne linjen viser tette overganger og desmosomer mellom tilstøtende celler. Cellene bør holdes ved høy tetthet (minst 1/4 konfluens).

Organism Menneskelig

Tissue Colon

Disease Karsinom

Metastatic site Lunge

Synonyms T-84, T 84

Kjennetegn

Age 72 år

Gender Mann

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation T84 (Cytion-katalognummer 300354)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0555

Biomolekylære data

Receptors expressed Peptidhormon, neurotransmitter

T84-celler | 300354

Antigen expression	Keratin + (immunoperoksidase-farging)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2
Tumorigenic	Ja, i nakne mus
Products	Karsinoembryonalt antigen (CEA), 600 ng/ml per 10 eksp6 celler per 10 dager, keratin
Mutational profile	T84-celler bærer en heterozygot Kras-mutasjon i kodon13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)
Karyotype	Det modale kromosomantallet i stamlinjen er 56, og forekommer i 28 % av tilfellene, med polyploidi i 12,4 %. Atten markører er felles for de fleste metafasene som ble undersøkt. Normal x og kromosom 13 var fraværende, kromosom 2, 4 og 22 var enkeltkopiert, og kromosom 12 var 4-kopiert. DM forekom i nesten 50 % av cellene.
Håndtering	
Culture Medium	Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820600a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales
Fluid renewal	2 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

T84-celler | 300354

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

T84-celler | 300354

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

CSF1PO: 10
D13S317: 9
D16S539: 10,11
D5S818: 12
D7S820: 8,10
TH01: 6,9
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 19
D21S11: 31
D18S51: 17
Penta E: 14
Penta D: 9
D8S1179: 15
FGA: 24

HLA-alleler

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '18:01:01, '35:01:01
C*: '04:01:01, '07:01:01
DRB1*: '01:01:01, '09:01:02
DQA1*: '01:01:01, '03:02:01
DQB1*: '03:03:02, '05:01:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:03:01, '01:03:02